



UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Děkanát, Hněvotínská 3, 779 00 Olomouc

V Olomouci 19. června 2017

Zápis o konání obhajoby disertační práce v oboru Lékařská imunologie

Ing. Regina Fillerová, vědecká pracovnice Ústavu imunologie LF UP, studentka prezenční formy doktorského studijního programu *Lékařská imunologie* na LF UP v Olomouci.

Téma práce: „**Studium vybraných mediátor zánětlivých a fibrotizačních procesů u pacientů s difúzními plicními nemocemi**“

Obhajoba se konala v Olomouci dne 19. června 2017 v 11:00 hod.

Komise:

předseda: prof. MUDr. Evžen Weigl, CSc. ✓

místopředseda: prof. MUDr. Pavel Horák, CSc. ✓

členové: RNDr. Ivo Lochman, CSc. ✓

doc. MUDr. Mária Bucová, CSc. ✓

doc. MUDr. Zuzana Čermáková, Ph.D. ✓

doc. RNDr. Vladimír Divoký, Ph.D. ✓

Oponenti:

doc. MUDr. Mária Bucová, CSc. ✓

Imunologický ústav LF UK v Bratislavě

doc. MUDr. Antonij Slavčev, CSc. OHLUŠEN

Institut klinické a experimentální medicíny v Praze

Školitel: Ingr. Eva Kriegová, Dr. ✓

Předseda komise přednesl stručnou charakteristiku uchazeče, hodnocení školitele a vedoucího školicího pracoviště. Poté uchazeč vyložil podstatný obsah své disertace. Oponenti přednesli své posudky. Uchazeč odpověděl na připomínky a dotazy oponentů.

Ve vědecké rozpravě vystoupili: viz příloha – zápis o diskusi.

Hlasování se účastnilo ...6... členů komise. Kladně hlasovalo ...6... členů, záporně ...0... členů, neplatných lístků bylo odevzdáno ...0... .

Usnesení:

Přítomní členové komise tajným hlasováním rozhodli, že **Ing. Regina Fillerová** obhájila disertační práci a doporučili udělení akademického titulu doktor ve zkratce Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

.....
prof. MUDr. Evžen Weigl, CSc.
předseda komise

Obhajoba disertační práce

Ing. Regina Fillerová

Předseda: prof. MUDr. Evžen Weigl, CSc.

Místopředseda: prof. MUDr. Pavel Horák, CSc.

členové: RNDr. Ivo Lochman, CSc.

doc. RNDr. Vladimír Divoký, Ph.D.

doc. MUDr. Mária Bucová, CSc.

doc. MUDr. Zuzana Čermáková, Ph.D.

Školitel: Ing. Eva Kriegová, Dr.

Oponenti: doc. MUDr. Mária Bucová, CSc.

doc. MUDr. Zuzana Čermáková, Ph.D.

Místo obhajoby: Seminární místnost Ústavu imunologie, Dostavba TÚ, 5. patro, Hněvotínská 6

Pan prof. MUDr. Evžen Weigl, CSc. zahájil obhajobu disertační práce, představil celou komisi a dále představil oponenty disertační práce.

Paní Ing. Eva Kriegová, Dr. jako vedoucí práce shrnula informace o studentce a doporučila práci k obhajobě.

Obhajoba disertační práce Ing. Reginy Fillerové byla zahájena v 11:20 hod.

Následovalo vyjádření oponentů, paní prof. MUDr. Zuzany Čermákové a doc. MUDr. Márii Bucové, k disertační práci a od obou oponentů byla paní Ing. Regina Fillerová navržena na získání titulu Ph.D.

V rámci oponentské posudku byly položeny následující otázky:

Otázka č. 1: Jak si vysvětlujete funkční dopad ANXA11 polymorfismu na tvorbu granulomů?

Odpověď na tuto otázku je velmi spekulativní. Vliv polymorfismu na funkci není plně zodpovězen a je stále předmětem studie.

Tento polymorfismus neovlivňuje mRNA expresi. Dále, že by mohl být funkční změnou, protože v N-terminální oblasti dochází ke změně aminokyselin a tím dochází k vyšší polaritě a tato změna ovlivňuje aktivaci apoptózy. Tento polymorfismus ovlivňuje terminální fázi dělení buněk a oddělení dceřiných buněk.

Naše práce zjistila, že tento polymorfismus ovlivňuje cytokin/chemokinovou síť pro tvorbu granulomu.

Otázka č. 2: Jaké další molekuly se na tvorbě granulomů podílí?

Na tvorbě granulomu se podílejí cytokiny, zejména IFN-gamm, IL-12, IL-2 a TNF-alfa. Dále se toho procesu účastní aktivované makrofágy, epiteloidní buňky a obrovské mnohobuněčné buňky. V neposlední řadě se toho procesu účastní chemokiny.

Otázka č. 3: Autorka v metodické části popisuje novou technologii kombinující klasickou interakci antigen-protilátka s detekcí pomocí PCR. Jaká je citlivost dané metody a jaké jsou výhody v porovnání s metodou ELISA?

Metoda ImunoPCR spojuje metodu značení antigen-protilátka s detekcí pomocí PCR.

V porovnání s metodou ELISA je tato metoda 100x citlivější. Umožňuje detekci proteinů v pg/ml.

My jsme pomocí této metody sledovali proteiny v séru a BAL buňkách.

V rámci naší studie jsme provedli proteinové profilování v séru a BAL buňkách za pomoci metody „antibody-based Proximity Extension Assay“. Tato metoda využívá protilátky, na které jsou navázány nukleotidy, které po navázání na příslušný antigen hybridizují a umožňují PCR reakci.

Stanovili jsme koncentrace proteinu IL-17, který má velmi nízké zastoupení. Našli jsme rozdíly v progresi a regresi.

Otázka č. 4: Bude autorka pokračovat ve výzkumu dané problematiky? Pokud ano, jakým směrem?

Ano, v rámci dané problematiky chceme ve spolupráci s klinikou plicních nemocí dále pokračovat.

Chceme se zaměřit na genetické studie, zejména bychom chtěli zjistit další funkční polymorfismy. Díky českému národnímu registru máme výbornou skupinu pacientů, ve které je momentálně 200 pacientů s IPF a 200 pacientů s CHOPN.

Také bychom se chtěli zaměřit na studium senescence. Zejména geny spojené s předčasným stárnutím a s chronickými plicními chorobami.

Naším cílem je zavedení a desing nových panelů genů a metod pro amplikonové sekvenování NGS. V rámci genového profilování bychom chtěli využívat vysokokapacitní systémy qPCR, které nám umožňují vyšší citlivost s využitím menších objemů reagentů a vzorků a s větším počtem genů.

Diskuze:

doc. Divoký: Existuje souvislost mezi chronickými plicními nemocemi a výskytem plicních malignit?

doc. Čermáková: Zaměřily jste se na souvislost mezi chronickými plicními nemocemi a výskytem plicních malignit?

Odpověď: Z hlediska velké složitosti obou daných onemocnění, lze předpokládat, že může být mezi nimi jistá souvislost. V rámci, ale naší práce jsme vzájemné ovlivnění nestudovali. Jistě budou, ale zajímavé se na problematiku z tohoto pohledu podívat.

prof. Horák: Popsali jste protektivní polymorfismus. Víte něco o četnosti toho polymorfismu?

Odpověď: 30 – 40 % v celkové populaci. U sarkoidózy se vyskytoval v menším množství.

prof. Weigl: Jaký způsobem jste kultivovali granulomy, které zmiňujete ve své práci? Indukovali jste jejich růst in vitro?

Odpověď: Vycházeli jsme z periferních mononukleárních buněk z krve, které jsme stimulovali konkalainem. Dále jsme využili dle uhlíkových nanočástic (nanotrubiček), jako stimulační látky, která vyvolávala vznik granulomů.

prof. Weigl: V rámci své práce jste sledovala různé molekuly ve spojitosti se sarkoidózou. Co vás vedlo k tomu, že jste si vybrala právě tyto molekuly?

Reagovali jsme na současný vývoj sarkoidózy. Při začátku naší studie nebyl znám ani referenční gen vhodný pro studium v BAL buňkách. Proto prvním našim cílem bylo nalézt vhodný referenční gen pro toto onemocnění. Po nalezení transkripčního faktoru T-bet, který byl objeven u Th1 imunitní odpovědi, jsme se rozhodli nahlédnout na problém i z pohledu této významné molekuly.

Molekulu annexin 11 jsme začali studovat ve spolupráci s panem doc. Mrázkem, který také velmi intenzivně sledoval tuto molekulu a její polymorfismus. .

doc. Divoký: V rámci vaší studie jste zjistili, že u kuřáků byla exprese transkripčního faktoru T-bet nižší než u nekuřáků? Čím si to vysvětlujete?

Správně by měla být skupina kuřáků ze studie vyloučena, protože mají naprosto odlišnou reakci u většiny plicních onemocnění a tudíž nám dává zkreslené výsledky.

Bylo však zjištěno, že kouření právě u onemocnění sarkoidózy má protektivní charakter.

prof. Weigl: Je známo, že jako referenční geny je vybírají geny s charakterem housekeeping genu. Musí to být zásadně housekeeping gen?

Nemusí se jednat výhradně o housekeeping gen. Housekeeping geny, ale mají výhodu, že jsou exprimovány ve všech buňkách a ve všech vývojových stádiích. Dále také nejsou spojeny s onemocněními a nejsou ovlivňovány vnějšími vlivy.